

TITRE DU PROJET : Caractérisation des vésicules extracellulaires tumorales urinaires et identification de biomarqueurs spécifiques pour le diagnostic du cancer du rein.

Acronyme : EV-CCR

UroCCR n° 288

PROMOTEUR / RESPONSABLE DE TRAITEMENT

☐ ACADEMIQUE

☒ INDUSTRIEL

Responsable(s)/coordonnateur(s) du projet : Pr Jean-Christophe Bernhard

Organisme : CHU de Bordeaux

Adresse : Hôpital Pellegrin, Place Amélie Raba Léon, 33000 BORDEAUX

E-mail : jean-christophe.bernhard@chu-bordeaux.fr

TYPE DE PROJET

☐ PROSPECTIF

☒ RETROSPECTIF

☒ MONOCENTRIQUE

☐ MULTICENTRIQUE

Date de début des inclusions :

Période d'étude :

Date de fin des inclusions :

Partenaires (équipes) associés au projet :

☒ OUI

☐ NON

Si oui, compléter les informations suivantes pour chacun des partenaires :

☒ Intra-UE

☐ Hors-UE

Responsable(s) : Wilfrid Mazier, Selma Cornillot-Clément

Organisme : HEKAT

E-mail : wilfrid.mazier@hekat.com

Rôle du partenaire : Détection et isolation de vésicules extracellulaires tumorales dans les urines de patients atteints d'un cancer du rein.

DESCRIPTION / JUSTIFICATION SCIENTIFIQUE DU PROJET

Contexte :

Le cancer du rein, classé comme le 14^e cancer le plus fréquent au niveau mondial, connaît une incidence croissante, avec 431 288 nouveaux cas dans le monde en 2020 [1]. Sur le plan histologique, la grande majorité (90 %) des cas de cancers du rein est des carcinomes à cellules rénales (CCR). Parmi ceux-ci, on distingue principalement le CCR à cellules claires (70 %), le CCR papillaire (10 à 15 %) et le CCR chromophile (5 %). Les autres sous-types sont rares, chacun ayant une incidence totale inférieure ou égale à 1 % [1].

La plupart des tumeurs rénales est découverte de manière fortuite lors d'examens d'imagerie tels que l'échographie ou la tomodensitométrie abdominale, effectués pour d'autres raisons médicales [2]. Le diagnostic repose souvent sur des images médicales qui permettent d'évaluer la taille et complexité de la tumeur, l'envahissement veineux, l'extension locale ou à distance. Cependant, ces examens ne permettent pas toujours de différencier une tumeur bénigne d'une tumeur maligne. La biopsie, qui est réalisée dans certains cas, offre un diagnostic fiable avec une grande sensibilité et spécificité. Elle est généralement effectuée avant un traitement ablatif, tout traitement systémique, ou en cas de doute diagnostique. Ainsi, les techniques diagnostiques actuelles du cancer du rein sont à la fois coûteuses et invasives, ce qui limite leur utilisation répétée. En l'absence de stratégie de dépistage systématique, le diagnostic précoce demeure souvent fortuit. Il est donc essentiel de mettre en place des solutions rapides, efficaces et non invasives pour faciliter la détection précoce de cette pathologie.

Dans ce contexte, le développement de méthodes diagnostiques rapides, fiables et non invasives constitue un enjeu majeur. L'identification de biomarqueurs spécifiques du CCR représente une approche prometteuse, bien qu'à ce jour aucun biomarqueur validé ne soit disponible en pratique clinique. Parmi les potentiels biomarqueurs, les vésicules extracellulaires tumorales urinaires (VETus) font l'objet de travaux de Recherche et ouvrent de nouvelles pistes diagnostiques et thérapeutiques [3].

Les vésicules extracellulaires (EVs) sont des nanoparticules délimitées par une membrane, sécrétées par la quasi-totalité des types cellulaires et présentes dans les principaux biofluides, notamment le sang, la salive et les urines. Elles transportent des protéines, des lipides, de l'ADN et diverses espèces d'ARN qui reflètent l'état physiologique de leur cellule émettrice. Les EVs jouent un rôle dans la communication intercellulaire dans des contextes physiologiques comme pathologiques. Au cours de la dernière décennie, les EVs se sont imposées comme des régulateurs clés des réponses immunitaires, de l'homéostasie tissulaire et de la progression tumorale. Leur cargaison moléculaire offre un accès peu invasif à des tissus autrement difficilement accessibles, soutenant les approches de biopsie liquide pour la détection, le suivi et la stratification des maladies, notamment les cancers. Malgré ce potentiel, l'hétérogénéité des EVs constitue un obstacle majeur à la compréhension mécanistique ainsi qu'à leur translation clinique. Dans les fluides biologiques, les EVs forment un mélange complexe de sous-populations différenciant par leur taille, leur composition, leur origine cellulaire et leur biogénèse. Les analyses en vrac (« bulk ») des EVs moyennent les populations, masquant la détection et l'étude de sous-ensembles rares que représentent les VETs.

Malgré ce potentiel, les technologies permettant de détecter, d'isoler et de caractériser ces sous-populations de VETs restent encore insuffisamment développées et non reproductibles.

Ce projet propose d'exploiter une technologie innovante développée par une start-up bordelaise permettant l'analyse et l'extraction des VETs présentes dans les urines de patients atteints de CCR. Cette technologie, appelée « NanoSorter® », permet d'isoler des nano-objets de taille inférieure à 200 nm sur la base de marqueurs fonctionnels avec une précision très supérieure à celle de la cytométrie en flux conventionnelle. Les VETs d'intérêt peuvent être détectées et isolées grâce à des anticorps fluorescents spécifiques ciblant des protéines biomarqueurs.

L'approche consiste à utiliser un premier marqueur permettant de reconnaître et d'isoler les EVs totales présentes dans les urines, puis un second marqueur dirigé contre une protéine cible exprimée par ces vésicules.

Rapidement, la fraction contenant les EVs totales sera isolée grâce à des méthodes de centrifugation et de chromatographie par exclusion de taille respectant les recommandations de la société internationale des vésicules extracellulaires [4,5]. Le reliquat d'échantillon sera jeté avec les autres déchets biologiques. La fraction de EVs sera ensuite marquée grâce à des anticorps fluorescents visant une ou des cibles fonctionnelles localisées à la surface des vésicules extracellulaires (totales ou tumorales). Après marquage, l'échantillon sera analysé et la sous-fraction de VETs d'intérêt sera triée sur la base d'un signal de fluorescence. En fin d'analyse, la sous-fraction d'intérêt sera récoltée et stockée à froid dans l'attente d'analyses secondaires de type « omic » (transcriptomique, génomique, protéomique) permettant d'étudier les VETs et leur potentiel clinique dans le CCR.

Objectif Principal :

Détecter et isoler des vésicules extracellulaires tumorales dans les urines de patients atteints de cancer du rein.

Objectifs Secondaires :

Identifier et caractériser des biomarqueurs présents sur les vésicules extracellulaires tumorales chez les patients atteints de cancer du rein.

Critères de jugement :

- Performances analytiques du Nanosorter : Détection d'une concentration significative de VETs spécifiques du CCR dans les urines de patients atteints de CCR (seuil de détection : 0.1% des EVs urinaires totales)

- Tri et isolement d'une quantité suffisante de VETs spécifiques du CCR depuis les urines (minimum 1 millions de VETs)

- Compatibilité de la technologie avec des analyses secondaires « omiques » sur le VETs triés (minimum 1 PoC en protéomique et transcriptomique)

Hypothèse :

Les vésicules extracellulaires tumorales présentes dans les urines des patients atteints de cancer du rein expriment des biomarqueurs spécifiques détectables grâce à la technologie de nano sorting, permettant un diagnostic non invasif.

Critères d'inclusion :

Patients majeurs, affiliés à un régime de sécurité sociale, de tous sexes, pris en charge au CHU de Bordeaux pour un cancer du rein localisé ou localement avancé de tout type histologique.

Critères d'exclusion :

- Patients métastatiques

- Patients mineurs

Analyses statistiques :

Comparaison du nombre de VET entre CCR et Sain (test t de Student apparié ou test de Wilcoxon apparié), avec la méthode de référence.

Association la concentration de VETs détectées et les paramètres cliniques ou biologiques de gravité par des coefficients de corrélation de Pearson, des tests de Student (ou de Wilcoxon) et des tests du Chi-Deux (ou de Fisher).

Résultats attendus :

Ce projet vise à démontrer la faisabilité et la pertinence clinique de cette technologie pour le diagnostic du cancer du rein. À terme, cette approche pourrait permettre un diagnostic précoce, non invasif, à partir de fluides biologiques facilement accessibles tels que l'urine, et ainsi améliorer la prise en charge des patients.

Bibliographie :

[1] Bukavina L, Bensalah K, Bray F, Carlo M, Challacombe B, Karam J A, Kassouf W, Mitchell T, Montironi R, O'Brien T, Panebianco V, Scelo G, Shuch B, Van Poppel H, Blosser C D and Psutka S P 2022 Epidemiology of Renal Cell Carcinoma: 2022 Update Eur. Urol. 82 529–42

[2] Jayson M and Sanders H 1998 Increased incidence of serendipitously discovered renal cell carcinoma Urology 51 203–5

[3] Droste M, Puhka M, van Royen ME, et al. Roadblocks of Urinary EV Biomarkers: Moving Toward the Clinic. J Extracell Vesicles. 2025;14(7):e70120. doi:10.1002/jev2.70120

[4] Erdbrügger U, Blijdorp CJ, Bijnsdorp IV, et al. Urinary extracellular vesicles: A position paper by the Urine Task Force of the International Society for Extracellular Vesicles. J Extracell Vesicles. 2021;10(7):e12093. doi:10.1002/jev2.12093

[5] Welsh JA, Goberdhan DCI, O'Driscoll L, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches. J Extracell Vesicles. 2024;13(2):e12404. doi:10.1002/jev2.12404

DONNEES CLINIQUES / RESSOURCES BIOLOGIQUES

Afin de faciliter la sélection des données, merci de répondre à ces questions :

- Quelles sont les données UroCCR que vous souhaitez mobiliser pour ce projet ?

☒ Données démographiques : âge, sexe, phénotype, ...

☒ Données de diagnostic : date, IMC, ASA, ECOG, antécédents, cTNM,

☒ Données de ressources biologiques : date, type d'échantillon, numéro d'identification, poids ou volume de l'échantillon, disponibilité de l'échantillon, temps avant cryoconservation.

- Recours données chaînées au Système National des Données de Santé (SNDS)

☐ OUI

☒ NON

- Le projet a-t-il des besoins en ressources biologiques ?

☒ OUI

☐ NON

* Type : Urines
* Quantité : <5ml ; 10 ml idéalement
* Autres précisions : Urines congelés et stockés à -20 ; préciser l'heure de prélèvement et de congélation.

Le projet a-t-il déjà bénéficié d'une évaluation scientifique positive au préalable ?

☐ OUI (joindre la copie) ☒ NON

Date :

Par qui (citer l'institution évaluatrice et fournir la copie des expertises) :

Réglementation :

La mise en œuvre des projets au sein de l'Entrepôt de Données de Santé (EDS) UroCCR se fait en accord avec les principes du règlement (UE) 2016/679 du Parlement Européen et du Conseil du 27 avril 2016 relatif à la protection des personnes physiques à l'égard du traitement des données à caractère personnel et à la libre circulation de ces données (dit RGPD), à la loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés (dite LIL), au référentiel relatif aux traitements de données à caractère personnel mis en œuvre à des fins de création d'entrepôts de données dans le domaine de la santé de la CNIL (dit référentiel EDS) et de charte de fonctionnement du réseau UroCCR en vigueur au jour de la soumission de la présente Fiche Projet. L'ensemble des données issues de la base UroCCR sont confidentielles et ne doivent donc pas être communiquées aux personnes non autorisées à les traiter. Par ailleurs, le traitement des données pour une autre finalité que celle décrite dans la présente Fiche Projet n'est pas autorisé.